Sérums d'agglutination de Brucella

REF R30164801
R30164901

F

1. DOMAINE D'APPLICATION

Les sérums d'agglutination de Brucella (*Brucella abortus* et *Brucella melitensis*) sont destinés à être utilisés dans des tests quantitatifs d'agglutination en tube pour l'identification sérologique des cultures de Brucella[1] à des fins épidémiologiques et diagnostiques. On peut également les utiliser comme antisérums témoins pour les suspensions colorées de Brucella (SS14/R30855501 et SS15/R30953501).

Les antisérums fournissent uniquement une identification sérologique ; l'identification complète d'un organisme doit se faire uniquement en association avec un test biochimique.

2. RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Les antigènes de surface de Brucella sont répartis en deux catégories : A et M. La plupart des souches de *Brucella abortus* et *B. suis* ont un rapport antigènes A/antigènes M élevé, contrairement à la plupart des souches de *B. melitensis*.[1,2] Les antisérums sont préparés à partir de souches homogènes représentatives de *B. abortus* et *B. melitensis* et sont absorbés de façon à ce que le premier réagisse plus intensément avec les souches à forte proportion d'antigène A, et le second avec les souches à forte proportion d'antigène M. La réactivité différentielle peut être détectée au moyen de tests d'agglutination en tube, utilisant chacun des deux sérums dirigés contre une suspension du type d'organismes testés. Normalement, il devrait y avoir une différence d'au moins le quadruple entre les titres obtenus avec les deux antisérums.

3. PRINCIPE DE LA METHODE

Les tests sérologiques sont basés sur le fait que les anticorps contenus dans le sérum, produits en réponse à l'exposition à des antigènes bactériens, agglutinent visiblement les bactéries portant les antigènes homologues.

4. REACTIFS

COMPOSITION DU COFFRET

Sérums d'agglutination de Brucella	1 flacon compte-gouttes	(2 ml)
Brucella abortus	ZM01/R30164801	
Brucella melitensis	ZM02/R30164901	

DESCRIPTION, PREPARATION ET CONDITIONS DE CONSERVATION RECOMMANDEES

Voir également le paragraphe **Précautions et restrictions d'emploi**.

Les sérums doivent être conservés entre 2 et 8°C pour maintenir leur activité au moins jusqu'à la date inscrite sur le flacon.

AGGLUTINATING SERUM

Sérums d'agglutination de Brucella

Il s'agit de sérums de lapin contenant des anticorps anti-*Brucella abortus* (ZM01/R30164801) et anti-*Brucella melitensis* (ZM02/R30164901). Conservateur : Phénol (0,5%). Chaque flacon, doté d'une tétine et d'un compte-gouttes, contient 2 ml de liquide et est fourni prêt à l'emploi.

Lors de leur conservation, il arrive que certains sérums se troublent légèrement. Ceci n'indique pas nécessairement leur détérioration et ne provoque normalement pas d'interférences avec les résultats ; les sérums peuvent cependant être clarifiés par centrifugation ou par filtration à travers une membrane (0,45 µm) avant l'emploi. Les sérums fortement troubles sont nécessairement contaminés et doivent être jetés.

5. PRECAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI

IVD

Destiné exclusivement au diagnostic *in vitro*.

Réservé exclusivement à un usage professionnel.

S'il vous plaît se référer à la fiche de données de sécurité et l'étiquetage du produit pour obtenir des informations sur les composants potentiellement dangereux.

INFORMATIONS DE SECURITE

1. Manipuler les cultures de Brucella conformément aux directives appropriées en vigueur.
2. L'équipement non jetable doit être stérilisé en utilisant une procédure appropriée après l'emploi, bien que la méthode la plus appropriée soit la stérilisation par autoclave pendant au moins 15 minutes à 121°C. Le matériel à usage unique doit être stérilisé par autoclave ou incinéré.
3. Les éclaboussures de matériaux potentiellement infectieux doivent être éliminées immédiatement à l'aide d'un papier absorbant et les surfaces contaminées doivent être nettoyées avec un désinfectant anti-bactérien standard ou de l'alcool à 70%. Le matériel utilisé pour le nettoyage des éclaboussures, y compris les gants, doit être éliminé comme s'il s'agissait de déchets biologiquement dangereux.
4. Ne pas effectuer de pipetages à la bouche. Pour manipuler les échantillons et effectuer le test, porter des gants à usage unique et une protection des yeux. Une fois le test terminé, se laver soigneusement les mains.
5. Ces réactifs contiennent du phénol. Bien que sa concentration soit faible, le phénol est connu comme étant toxique par ingestion et par contact avec la peau. Ne pas avaler les réactifs. Si l'un d'entre eux entre en contact avec la peau ou les yeux, laver la surface en rinçant immédiatement et abondamment à l'eau.
6. Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, il est fortement recommandé de traiter les échantillons et réactifs comme s'ils étaient potentiellement infectieux et de les manipuler avec toutes les précautions nécessaires.

PRECAUTIONS D'ANALYSE

1. Ne pas utiliser les antisérums au-delà de la date de péremption indiquée. Eviter la contamination microbiologique des antisérums, ceci pouvant provoquer des résultats erronés et réduire la durée de vie du produit.
2. Ne pas modifier la procédure du test ni le temps d'incubation ou les températures.
3. Après emploi, replacer les sérums à la température de conservation recommandée.

6. PRELEVEMENT, TRANSPORT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Pour l'utilisation de cultures de Brucella, s'assurer que les cultures sont récentes et proviennent de milieux non-sélectifs. En cas d'utilisation de sérums comme témoins pour les suspensions colorées de Brucella, les conserver entre 2 et 8°C.

7. PROCEDURE

MATERIEL FOURNI

Voir le paragraphe **Composition du coffret**.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Les suspensions colorées de Brucella sont disponibles dans des flacons de 5 ml de liquide :

   Brucella abortus Réf. SS14/R30855501
   Brucella melitensis Réf. SS15/R30953501
2. Sérum physiologique à 0,85%.
3. Anse bactériologique et bec bunsen.
4. Source de lumière sur fond sombre.
5. Tubes à essai et portoir.
6. Bain-marie réglé à 37°C.
7. Chronomètre.
8. Pipettes de 100 µl à 1 000 µl.
9. Sérum physiologique additionné de phénol (0,5%).

PROCEDURE DU TEST

Agglutination en tube[3] – culture inconnue

Etape 1 Mettre en suspension une fraction de culture pure dans du sérum physiologique additionné de phénol à 0,5%, à raison d'environ 5 ml par inclinaison. Chauffer la suspension à 60°C pendant une heure afin d'inactiver les organismes et après refroidissement, ajuster l'opacité de la suspension à l'aide de sérum physiologique additionné de phénol de façon à obtenir environ 2 x 10^9 organismes par ml.

Etape 2 Préparer une rangée de dilutions de sérum pour chaque test, par exemple une rangée de sérum *B. abortus* et une rangée de sérum *B. melitensis* pour chaque organisme inconnu (voir tableau 1), en utilisant du sérum physiologique (0,85%) comme diluant. Mélanger le contenu du tube 1 et transférer 0,5 ml dans le tube 2 puis mélanger et transférer 0,5 ml dans le tube 3 et ainsi de suite jusqu'au tube 8 non inclus ; terminer en éliminant 0,5 ml du tube 7.

Tableau 1

Tube Nº	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Sérum physiologique (ml)	0,9	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Sérum (ml)	0,1	Dilutions en série de 0,5 ml →						0
Dilution finale	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Témoin

Etape 3 Introduire 0,5 ml de la suspension dans chaque tube.

Etape 4 Bien mélanger le contenu des tubes, et laisser incuber à 37°C pendant 24 heures avant la lecture des résultats.

Etape 5 Observer l'apparition éventuelle d'une agglutination et lire sur un fond sombre.

Agglutination en tube – suspension colorée

Cette méthode peut être utilisée pour contrôler l'activité des antisérums, ou en tant que contrôle de l'activité des suspensions lors d'un test de Widal.

Etape 1 Préparer une rangée de dilutions de sérum pour chaque test (voir tableau 2), en utilisant du sérum physiologique à 0,85% comme diluant. Mélanger le contenu du tube 1 et transférer 1 ml dans le tube 2 puis mélanger et transférer 1 ml dans le tube 3 et ainsi de suite jusqu'au tube 8 non inclus ; terminer en éliminant 1 ml du tube 7.

Tableau 2

Tube Nº	1	2	3	4	5	6	7	8
Sérum physiologique (ml)	1,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Sérum (ml)	0,1	Dilutions en série de 1 ml →						0
Dilution finale	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Témoin

Etape 2 Agiter la suspension, y compris l'éventuel contenu du compte-gouttes. Distribuer une goutte de la suspension dans chaque tube.

Etape 3 Bien mélanger le contenu des tubes et laisser incuber à 37°C pendant 24 heures avant la lecture des résultats.

Etape 4 Observer l'apparition éventuelle d'une agglutination. Il n'est pas nécessaire d'utiliser un éclairage de fond puissant.

8. RESULTATS

Agglutination en tube – culture inconnue

Dans une réaction positive, une agglutination granulaire manifeste doit apparaître. Il peut se produire un éclaircissement du liquide et un sédiment qui monte sous forme de masse granulaire, puis se redépose au fond du tube lorsqu'on donne une chiquenaude à celui-ci. Dans le cas d'une réaction négative ainsi que pour le sérum physiologique témoin, l'aspect de la suspension doit rester inchangé et le sédiment doit se remettre en suspension quand on donne une chiquenaude au tube.

Une agglutination dans le tube témoin indique une suspension de type R (rugueux), qui n'est pas appropriée pour le test.

Agglutination en tube – suspension colorée

En cas d'agglutination dans le tube contrôle, la suspension doit être éliminée. Les antisérums ne sont pas des sérums standard ; le titre obtenu n'est pas toujours le titre inscrit sur le flacon, mais il doit s'en approcher.

CONTROLE DE QUALITE

Il est recommandé de tester les sérums régulièrement selon la méthode recommandée avec des suspensions connues comme étant positives et négatives (suspensions colorées de Brucella ou suspensions préparées à partir de cultures de Brucella complètement identifiées).

INTERPRETATION DES RESULTATS

Le titre de sérum est la dernière dilution présentant une agglutination positive. Un titre égalant ou approchant le titre inscrit sur le flacon doit indiquer une homologie.

9. LIMITES DE LA METHODE

Des antigènes communs à ceux de Brucella ont été décrits[4,5] dans *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* et des espèces de salmonelles. Les tests sérologiques utilisés seuls ne fournissent rien de plus qu'une identification présomptive et un test de confirmation biochimique doit être réalisé.

Les souches de Brucella présentent une réactivité croisée dans les tests d'agglutination en tube, bien qu'il existe une différence de réactivité.

10. RESULTATS ATTENDUS

Agglutination visible en présence d'antigènes homologues.

11. CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES

Brucella abortus (ZM01/R30164801) et *Brucella melitensis* (ZM02/R30164901) présentent une agglutination visible dans les tests d'agglutination en tube avec respectivement la suspension colorée de *Brucella abortus* (SS14/R30855501) et la suspension colorée de *Brucella melitensis* (SS15/R30953501).

12. BIBLIOGRAPHIE

1. **Corbel, M.J. and Brinley Morgan, W.J.** (1975). Proposal for minimal standards for descriptions of new species and biotypes of the genus *Brucella. Int. J. Syst. Bact.,* **25,** 83.
2. **Wilson, G.S. and Miles, A.A.** (1975). Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity, 6th ed., London, E. Arnold. Pages 1063-1065.
3. **Alton, G.G., Jones, L.M.** *et al.* (1975). Laboratory Techniques in Bruccellosis. 2nd ed., W.H.O. Monograph Series, No. 55.
4. **Corbel, M.J.** (1975). The serological relationship between *Brucella* spp., *Yersinia enterocolitica* serotype IX and *Salmonella* serotypes of Kauffmann-White group N. *J. Hyg. (Camb.),* **75,** 151.
5. **Feeley, J.C.** (1969). Somatic O antigen relationship of *Brucella* and *Vibrio cholerae. J. Bacteriol.,* **99,** 645.

13. CONDITIONNEMENT

REF ZM01/R30164801.....2 ml
ZM02/R30164901.....2 ml

Légende des symboles

REF	Référence de catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
	Consulter le mode d'emploi
	Limite de température (température de conservation)
LOT	Code de lot (numéro de lot)
	A utiliser avant (date de péremption)
TITRE	Dernière dilution montrant une agglutination positive
	Fabricant

CE

FU X7815-GB, Imprimé au Royaume-Uni

révisée Novembre 2013

Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
UK

Pour tout support technique, contacter le distributeur local.